

of the geomagnetic field decreases the variety of the enzyme activity in neurons, reduces the variability in the ratio of active LDH: MDH, i.e. increases the likelihood of the presence of cells in a population of neurons with a limited number of relations in the studied enzymes. In addition, the monthly cycle is broken changing the activity of the enzyme.

The authors suggest that changes in activity of LDH and MDH and likelihood

ratios of this activity indicate dysfunction of the Krebs cycle in the neurons of the sensorimotor cortex of rats, which makes the neuronal population less plastic and adaptable to adverse influences.

Keywords: geomagnetic field, deprivation, succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase, neurons.

*Впервые поступила в редакцию 22.05.2013 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 615.916:577.122

ПОРІВНЯННЯ МІЖОРГАННОГО РОЗПОДІЛУ ТА ТОКСИЧНОЇ ДІЇ $CdCl_2$ ТА ЕКЗОГЕННОГО КОМПЛЕКСУ КАДМІЮ З МЕТАЛОТІОНЕЇНОМ ПРИ ІНТРАПЕРІТОНЕАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ БІЛИМ ЩУРАМ

Пихтєєва О.Г.

Український НДІ медицини транспорту, м. Одеса

В експерименті на лабораторних тваринах при одноразовому внутришньочеревному введенні досліджений між органний розподіл хлориду кадмію і комплексу кадмію з металотіонеїном (Cd_7 -МТ). Показано, що індукція синтезу МТ в печінці та нирках, а також міжорганний розподіл кадмію значно відрізняються при введенні цих сполук. Показано, що зв'язування кадмію з МТ має помітну гепатопротекторну дію. Зроблено висновок, що пошкоджуючу дію в нирках спричиняють сполуки кадмію, які утворюються в лізосомах після деградації металопротейнових комплексів. Перекладати відповідальність за нефротоксичну дію на комплекс кадмію з металотіонеїном немає достатніх підстав. Вказано на необхідність проведення додаткових досліджень для вивчення різних аспектів впливу зв'язування металів з МТ на клітинні механізми токсичної дії важких металів.

Ключові слова: металотіонеїн, кадмій, міжорганний розподіл

Важкі метали (ВМ) як пріоритетні забруднювачі довкілля в останні десятиріччя пригортають до себе увагу токсикологів, гігієністів та екологів [1, 2]. Особлива увага надається аспектам проблеми транспорту та реалізації токсичної дії важких металів в біосистемах, в першу чергу, його клітинних ланок. Якщо первинне зв'язування і розподілення металів в органах і системах переважно пов'язане з участю неспецифічних білків-транспорттерів, в основному альбуміну крові, то клітинний транспорт передбачає участь десятків специфічних транспорттерів і великої кількості до-

поміжних чинників. Саме в цій ланці металотранспортної системи з'являються нові данні, які найбільш суттєво впливають на розуміння цілісної картини металотранспорту і патогенезу його зрушень.

В транспорті найбільш поширених і токсичних важких металів важлива роль належить металотранспортному білку металотіонеїну (МТ) [3]. Основна фізіологічна функція МТ полягає в транспорті цинку, забезпеченні його гомеостазу та біодоступності у місцях синтезу ключових ферментів. Завдяки наявності у складі МТ семи координаційних центрів, які здатні високо-

селективно зв'язувати іони d^{10} металів (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} , Cu^{+} , Ag^{+}), МТ проявляє детоксикаційні властивості. Саме ці важкі метали є основними індукторами синтезу МТ, а регуляція індукції відбувається на стадії транскрипції [4].

Протягом останніх років світовий науковий мир не може прийти до згоди щодо питання токсичності кадмію та комплексу Cd-МТ. Так G.F. Nordberg et al. [5], вважають, що при попаданні сполук кадмію в організм він неселективно зв'язується з високомолекулярними білками і надходить в печінку, де відбувається утворення його комплексів з МТ. У новоствореному комплексі Cd-МТ метал міцно пов'язаний і не може пошкоджувати гепатоцити. Комплекс Cd-МТ по не до кінця з'ясованому механізму (імовірно шляхом екзоцитозу) виводиться з гепатоциту та з кров'ю переноситься в нирки, де піддається деградації в лізосомах нефроепітелію проксимальних канальців. При цьому в кислому середовищі лізосом комплекс розщеплюється і під дією ферментів зазнає деградації з виділенням низькомолекулярних розчинних сполук кадмію, які повинні надходити в сечу і виводитися з організму. При недостатності лізосом та/або надмірному надходженні комплексу Cd-МТ, ці низькомолекулярні сполуки кадмію здатні порушувати функцію лізосом і пошкоджувати клітини за рахунок ферментотоксичної, генотоксичної дії або порушення функції мітохондрій.

Таким чином, вважалося, що комплекс Cd-МТ проявляє підвищену нефротоксичність дію. Однак уже в середині 90-х років W.C. Prozialeck et al. [6] на культурі клітин нирок показали, що цитотоксичність Cd-МТ значно менше, ніж $CdCl_2$, що відповідає меншому поглинанню Cd і накопиченню його в клітинах з Cd-МТ, ніж з $CdCl_2$. Ці дослідження роком пізніше були підтвержені Liu J., Liu Y. і Klaassen C.D. [7]. Groten J.P. et al., бажаючи розібратися в цій проблемі, провели хронічний експеримент, при якому перорально щурам вводили $CdCl_2$ або Cd-МТ протягом 10 місяців. Cd-МТ показав меншу нефротоксичність ніж $CdCl_2$, при цьому накопичення Cd в нирках

було нижче [8]. Автори зробили висновок про те, що механізм нефротоксичності Cd подібний до механізму гепатотоксичності, тобто, шкідливу дію спричиняють не Cd-МТ, а інші сполуки Cd з неспецифічним зв'язуванням.

На наш погляд, проведений експеримент на тваринах мав істотні недоліки. При пероральному введенні в кислому середовищі шлунка і особливо в 12-палої кишці під дією травних ферментів комплекс Cd-МТ безсумнівно піддавався деградації і відбувалося всмоктування вже інших сполук. Незруйнований комплекс, найімовірніше, взагалі не повинен всмоктуватися в кишечнику, а повинен виводитися з калом. Можливо, саме цими причинами пояснювалося більш низьке накопичення кадмію при такому способі його введення.

Нам здалося доцільним провести експеримент, при якому і неорганічна сіль, і комплекс Cd-МТ вводилися б внутрішньочеревно (в/о).

Матеріали та методи

Експерименти проводили в лабораторії промислової та екологічної токсикології ДП «Український НДІ медицини транспорту». Лабораторних тварин отримували з віварію Одеського національного медичного університету, який обладнаний відповідно існуючих санітарно-гігієнічних норм. Усіх дослідних тварин утримували в стандартних санітарних умовах при $t = 20-24$ °C, вологості 50–55 %, природному світловому режимі «день-ніч», на збалансованому харчовому раціоні відповідно до діючих норм. Усі дослідження проводили з дотриманням правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей».

Дослідження проведені на статевозрілих безпородних щурах з вихідною масою 180-200 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію з вільним доступом до їжі та води, що попередньо досліджувались на вміст ВМ. В жодному випадку вміст Zn, Cu, Hg, Cd не виходив за межі допустимих значень у харчових продуктах згідно

МБТ [9] та ДсанПін 2.2.4-171-10 "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною" [10]).

Вимірювання вмісту ВМ проводили методом атомно-емісійної спектроскопії з електродугової атомізацією на спектрометрі ЭМАС-200 ССD. Стан процесів вільно радикального окислювання, утворення АКФ та розвитку оксидативного стресу визначали за інтенсивністю спонтанного накопичення низькомолекулярних продуктів ПОЛ, які реагують з тіобарбітуровою кислотою з утворенням малонового діальдегіду (ТБК-активні продукти в гомогенатах тканин досліджуваних органів) [11]. Для оцінки функції лізосом визначали активність кислоти фосфатази (КФ) [12].

Результати та їх обговорення

Для проведення експерименту у щура внутрішньочеревним введенням хлориду кадмію в дозі 0,5 мг/кг (по солі) був викликаний індуктивний синтез МТ. Через добу після введення CdCl₂ тварину виводили з експерименту під хлороформний наркозом та виділяли печінку, яку гомогенізували в попередньо стерилізованій бидистильованій воді. З отриманого гомогенату виділяли низькомолекулярну білкову фракцію, що містить МТ, яку обробляли надлишком кадмію і витримували 1 годину для утворення комплексу Cd₇-МТ (тобто до повного насичення). Потім надлишок кадмію видаляли співо-садженням з карбонатом кальцію. В результаті отримали розчин, що містить комплекс Cd₇-МТ. У аликвоті цього розчину визначили вміст кадмію, який складав 51,6 мкг/мл.

Білі щури масою 200-220 г були розділені на 3 групи по 3 тварини у кожній. Тваринам першої групи в/о вводили розчин хло-

риду кадмію в дозі 0,25 мг/кг (по металу), тваринам другої групи — комплекс Cd₇-МТ (об'єм введеного розчину розраховували залежно від маси щурів таким чином, щоб доза по металу відповідала 0,25 мг/кг (близько 1 мл)). Контрольним тваринам вводили 0,9 % р-р NaCl.

Через добу після введення сполук кадмію тварин виводили з експерименту. Визначали вміст кадмію і МТ у печінці та нирках, кількість малонового діальдегіду та активність КФ.

Результати вмісту металів і МТ наведено в табл. 1

Як видно з даних, представлених в табл. 1, існує яскраво виражена спрямованість у транспорті кадмію в залежності від його форми. Комплекс Cd₇-МТ, який в звичайних умовах в організмі не утворюється, мало поглинається гепатоцитами, а спрямовується в нирки, де, ймовірно, поглинається шляхом ендоцитозу і утилізується в лізосомах. Про це побічно свідчить значне зростання в нирках активності маркерного лізосомального ферменту — кислоти фосфатази, ймовірно, за рахунок зростання числа і активації вторинних лізосом у групі, що одержувала Cd₇-МТ. При введенні CdCl₂ більш виражені зміни в активності лізосомальних ферментів спостерігаються в печінці, хоча різниця між зміною активності в печінці та нирках в

Таблиця 1

Концентрації кадмію і МТ в органах білих щурів, які отримали одноразово внутрішньочеревно 0,25 мг/кг кадмію у вигляді CdCl₂ або Cd₇-МТ, через 24 години після введення

Показник	Орган Група	Печінка			Нирки		
		CdCl ₂	Cd ₇ -МТ	Контр.	CdCl ₂	Cd ₇ -МТ	Контр.
Cd, мкг/г	1	3,20	0,81	0,33	2,58	18,30	0,53
	2	4,41	0,99	0,41	3,51	20,11	0,64
	3	3,70	0,69	0,19	2,71	16,39	0,31
	Середнє	3,77	0,83	0,31	2,93	18,27	0,49
	Ст. відх.	0,60	0,15	0,11	0,49	1,85	0,17
	Довірч. інт.	0,02	0,01	0,01	0,02	0,07	0,01
МТ, нмоль/г	1	56,3	7,3	3,22	11,2	23,8	5,23
	2	68,9	8,1	3,63	12,7	27,1	5,87
	3	61,7	5,1	2,90	9,8	19,9	4,95
	Середнє	62,3	6,9	3,25	11,23	23,60	5,35
	Ст. відх.	6,3	1,5	0,37	1,45	3,60	0,47
	Довірч. інт.	0,2	0,1	0,01	0,05	0,13	0,02

цьому випадку менш виражена (рис. 1).

У той же час спостерігається активація перекисного окислення ліпідів в органах-мішенях, причому ці процеси найбільш активно відбуваються в печінці при введенні хлориду кадмію (рис. 2), що відображає гепатотоксичну дію цієї сполуки. Така ж доза по металу у вигляді Cd₇-MT проявляє значно меншу пошкоджувальну дію в печінці, що може свідчити про гепатопротекторний ефект зв'язування кадмію з MT.

У нирках спостерігається протилежна картина. Однак, це не дозволяє стверджувати, що саме комплекс Cd₇-MT проявляє більшу нефротоксичну дію. На нашу думку, спостережувана закономірність пояснюється токсикокінектикою процесів транспорту, біотрансформації та перерозподілу при введенні різних сполук кадмію. Для потрапляння в нирки кадмію, введеного у вигляді CdCl₂, ймовірно, потрібен більший час, який пов'язаний з утворенням специфічних комплексів з MT з його неспецифічних металобілкових комплексів з високомолекулярними білками крові, які утворюються при потрапленні кадмію в організм.

Таким чином, з проведених досліджень можна зробити наступні **ВИСНОВКИ**:

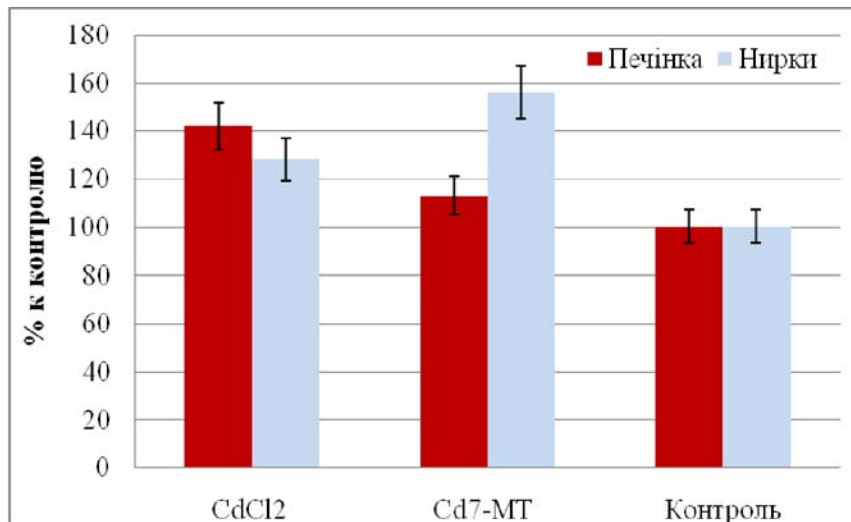


Рис. 1. Зміна активності кислої фосфатази (по відношенню до контролю), у печінці та нирках щурів, які отримали одноразово внутрішньочеревно 0,25 мг/кг кадмію у вигляді CdCl₂ або Cd₇-MT, через 24 години після введення.

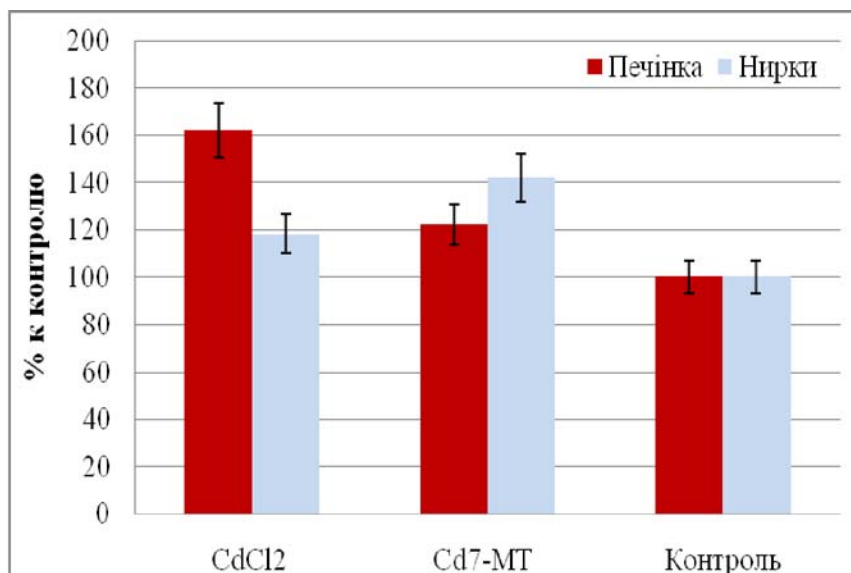


Рис. 2. Зміна концентрації малонового діальдегіду (у % по відношенню до контролю), у печінці та нирках щурів, які отримали одноразово внутрішньочеревно 0,25 мг/кг кадмію у вигляді CdCl₂ або Cd₇-MT, через 24 години після введення.

1. Зв'язування з MT має помітну гепатопротекторну дію.
2. Ймовірно, шкідливу дію в нирках надають сполуки кадмію, які утворюються в лізосомах після деградації металопротейнових комплексів. Перекладати відповідальність за нефротоксичну дію на комплекс кадмію з металлотіонеїном немає достатніх підстав.

3. Потрібно проведення додаткових досліджень для вивчення різних аспектів впливу зв'язування металів з МТ на клітинні механізми токсичної дії важких металів.

Література

1. Трахтенберг И.М., Колесников В.С., Луковенко В.П. Тяжёлые металлы во внешней среде: Современные гигиенические и токсикологические аспекты. — Минск: Наука і техника, 1994. — 285 с.
2. Сердюк А.М. Гігієнічні проблеми України на рубежі століть // Гігієнічна наука та практика на рубежі століть. Матеріали XIV з'їзду гігієністів України. 19-21 травня 2004 р. Дніпропетровськ. — Дніпропетровськ: АРТ-ПРЕС, 2004. — Т. 1. — С. 30-33.
3. Шафран Л.М., Пыхтеева Е.Г., Большой Д.В. Металлотионеины / Под редакцией проф. Л.М. Шафрана — Одесса: Издательство “Черномор’я”, 2011. — 428 с.
4. Curtis D. Klaassen. Induction of Metallothionein as an Adaptive Mechanism Affecting the Magnitude and Progression of Toxicological Injury / Curtis D. Klaassen and Jie Liu// Environmental Health Perspectives — 1998 — № 106, Suppl 1 — P. 297–300.
5. Nordberg G.F., Goyer R, Nordberg M. Comparative toxicity of cadmium-metallothionein and cadmium chloride on mouse kidney. Arch Pathol. 1975;99:192–197.
6. Prozialeck WC, Wellington DR, Lamar PC. Comparison of the cytotoxic effects of cadmium chloride and cadmium-metallothionein in LLC-PK1 cells. Life Sci. 1993;53:337–342.
7. Liu J, Liu Y, Klaassen CD. Nephrotoxicity of CdCl₂ and Cd-metallothionein in cultured rat kidney proximal tubules and LLC-PK1 cells. Toxicol Appl Pharmacol. 1994;128:264–270.
8. Groten J.P., Koeman J.H., van Nesselrooij JH, Luten JB, Fentener van Vlissingen JM, Stenhuis WS, van Bladeren PJ. Comparison of renal toxicity after long-term oral administration of cadmium chloride and cadmium-metallothionein in rats. Fundam Appl Toxicol. 1994;23:544–552.
9. Збірник важливих офіційних матеріалів з санітарних і протиепідемічних питань. Видання офіційне. Під загальною редакцією Головного державного санітарного лікаря України В.Ф.Марієвського. У шести томах. Том 1. Частина 2. Медико-біологічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною”. Київ, 1995. 246 с.
10. ДсанПіН 2.2.4-171-10 “Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною”.
11. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты — «Современные методы в биохимии» под ред. Ореховича В.Н., М.: Медицина, 1977 г. С. 66-68.
12. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А.Даниловой. — СПб.: Питер, 2003. — 736 с.

Резюме

СРАВНЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ CdCl₂ И ЭКЗОГЕННОГО КОМПЛЕКСА КАДМИЯ С МЕТАЛЛОТИОНЕИНОМ ПРИ ИНТРАПЕРИТОНЕАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ
Пыхтеева Е.Г.

В эксперименте на лабораторных животных при однократном внутрибрюшинном введении исследовано межорганное распределение хлорида кадмия и комплекса кадмия с металлотионеином (Cd₇-МТ). Показано, что при введении этих соединений индукция синтеза МТ в печени и почках, а также межорганное распределение кадмия значительно различаются. Показано, что связывание кадмия с МТ играет заметную гепатопротекторную роль. Сделан вывод, что повреждающее действие в почках вызывают соединения

кадмия, которые образуются в лизосомах после деградации металлопротеиновых комплексов. Считать ответственным за нефротоксическое действие комплекс кадмия металлотионеином нет достаточных оснований. Указано на необходимость проведения дополнительных исследований для изучения различных аспектов влияния связывания металлов с МТ на клеточные механизмы токсического действия тяжелых металлов.

Ключевые слова: металлотионеин, кадмий, межорганное распределение

Summary

COMPARISON OF DISTRIBUTION AND TOXIC EFFECT OF CdCl₂ AND EXOGENOUS COMPLEX OF CADMIUM AND METALLOTHIONEIN IN CASE OF INTRAPERITONEAL ADMINISTRATION

Pykhtieieva E.G.

Toxicokinetics and toxicodynamics of cadmium chloride and cadmium and metallothionein complex (Cd7-MT) was investigated during the experiment on laboratory animals (rats, mice) in case of

single intraperitoneal administration. It was shown that in case of administration of these compounds induction of MT synthesis in liver and kidneys and also interorgan distribution of cadmium considerably differ. It was shown that banding of cadmium with MT plays a remarkable hepatoprotective part. A conclusion was made that the damaging effect in kidneys is caused by compounds of cadmium, which form in lysosomes after degradation of metalprotein complexes. There are not enough basements to consider cadmium and metallothionein complex responsible for nephrotoxic effect. The necessity of carrying out additional investigation for studying of different aspects of influence of banding of metals with MT on cellular mechanisms of toxic effect of heavy metals was pointed out.

Keywords: metallothionein, cadmium, interorgan distribution.

*Впервые поступила в редакцию 14.05.2013 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 543.621:615.916

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЕВРОПИЯ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МИГРАЦИИ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ ИЗ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ ВО ВНЕШНЮЮ СРЕДУ

Большой Д.В.

Украинский НИИ медицины транспорта, г. Одесса

Показана возможность использования европия для тонкого изучения низкоуровневой миграции тяжёлых металлов из полимерного материала во внешнюю среду и практического измерения количественных параметров такой миграции.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, миграция, европий, моделирование.

Постановка проблемы (введение)

Санитарно-гигиеническое значение металлов в составе полимерных материалов — сравнительно новое направление гигиены и профилактической токсикологии, связанное в первую очередь с революционными изменениями в технологии производства полимеров, наблюдающимися в продолжение последних 15-20 лет

и заключающихся в качественно и количественно возросшем использовании соединений металлов на всех стадиях полимерного производства. Известно, что в зависимости от типа ПМ в содержание металлов может достигать 5-10 % по массе, а в некоторых видах инженерных пластиков даже до 40 %.

Кроме того, для производства поли-